

CARLA FERNANDA PICCOLI

Suscetibilidade de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae) ao inseticida temefós.

**CURITIBA
2009**

CARLA FERNANDA PICCOLI

Suscetibilidade de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae) ao inseticida temefós.

Monografia apresentada à disciplina
Estágio em Zoologia como requisito
parcial à conclusão do Curso de
Ciências Biológicas na modalidade
de Bacharelado, Departamento de
Zoologia, Setor de Ciências
Biológicas, Universidade Federal do
Paraná.

Orientador: Prof^o. Dr^o. Mário Antônio Navarro da Silva

**CURITIBA
2009**

Dedico

À minha família, amigos e mestres, por todo o apoio e carinho.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Professor Doutor Mário Antônio Navarro da Silva, por todo o seu apoio, conversas e encorajamento.

À minha família, por toda a paciência e incentivo.

A todos os membros do Laboratório de Entomologia Médica e Veterinária, pelos conselhos e ajuda prestada, em especial para:

Ana Caroline Dalla Bona, pelo companheirismo e por toda a ajuda que me prestou e presta ainda hoje. Pelos doces, cafés, trabalhos de finais de semana, cursos e experimentos, por sempre estar ao meu lado conseguindo me animar.

Mário Luis Pessoa Guedes, por sempre estar presente com suas brincadeiras e discussões sobre os mais variados assuntos.

Jonny Edward Duque Luna, presente desde o início dos estudos, por todas as idéias, dicas e conversas.

Betina Westphal, Daniel de Lima Bellan, Gisele de Moraes, Rodrigo Faïtta Chitolina e Sullamy Aciole, os mais novos integrantes do laboratório que, além de auxílio, trouxeram um novo ar para os trabalhos.

À Daniel Jussiani do Prado, quem mais esteve do meu lado durante a toda graduação, me ajudando, entendendo, e não permitindo que eu desanimasse.

Aos meus amigos: Fátima Nishimori, Laércio Neto, Rafael Sandoval, Karine Pinto e Vairo, Daniel Moura, Fernando Casare, Lucinir Feltrin, Diego Zanlorenzi, Laércio Piacini, Daniele de Oliveira, Edson Lorencetti e tantos outros pelo companheirismo, carinho e apoio nos bons e maus momentos.

À Secretaria de Saúde, pela coleta dos materiais.

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1	Mapa do Brasil, com destaque para o Estado do Paraná e os municípios analisado para ocorrência de população de <i>Ae. aegypti</i> e <i>Ae. albopictus</i> , resistentes ao temefós.....	12
Fig. 2	Paletas e início do processo de criação de <i>Aedes</i> sp.: a) ovitrampa, b) paleta, c) detalhe da paleta com ovos, d) recipiente com paletas, água desclorada e ração para estimular a esclosão dos ovos.....	14
Fig. 3	Processo de criação para obtenção de larvas de <i>Aedes</i> sp. para realização dos bioensaios : a) larvas e pupas, b) recipientes com pupas e adultos, c) identificação de adultos, d) diferenças morfológicas entre <i>Ae. aegypti</i> e <i>Ae. albopictus</i> , e) gaiolas para criação de adultos, f) oviposição.....	14
Fig. 4	Modelo esquemático do Ensaio Dose Diagnóstica.....	16
Fig. 5	Modelo esquemático do Ensaio Dose Resposta.....	17

LISTA DE TABELAS

Tabela I	Critérios para análise dos resultados com o Bioensaio Dose Diagnóstica.....	18
Tabela II	Número total de paletas e percentagem de paletas positivas nos municípios de Loanda, Maringá e Nova Londrina.....	21
Tabela III	Atividade de oviposição, eclosão de adultos e sexagem e razão sexual de <i>Aedes aegypti</i> e <i>Aedes albopictus</i> nos municípios de Loanda, Maringá e Nova Londrina.....	21
Tabela IV	Bioensaios com a concentração diagnóstico 0,022 mg/L (calibrada com a cepa Rockefeller) em larvas de <i>Ae. aegypti</i> e <i>Ae. albopictus</i> provenientes dos municípios de Loanda, Maringá e Nova Londrina.....	22
Tabela V	Municípios avaliados, espécies e geração utilizada, concentrações letais (mg/L) e respectivos intervalo de confiança, coeficiente angular, qui-quadrado e razão de resistência (RR ₅₀ e RR ₉₅) em populações de <i>Ae. aegypti</i> de municípios do estado do Paraná.....	22

RESUMO

O controle de vetores é um dos principais métodos na prevenção de arboviroses como a dengue. Os inseticidas químicos se mantêm como parte essencial dos programas de controle integrado, embora importantes avanços ocorram no desenvolvimento de medidas alternativas de controle. O monitoramento da suscetibilidade de culicídeos como *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae) a inseticidas químicos é imprescindível no processo de vigilância entomológica. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a suscetibilidade ao inseticida temefós em populações de *Ae. aegypti* de três municípios do Estado do Paraná. As populações analisadas foram provenientes dos municípios de Loanda, Maringá e Nova Londrina, localizadas no Estado do Paraná - Brasil. A suscetibilidade das populações foi analisada para estimar os valores das CL_{50} e CL_{95} e determinar as razões de resistência RR_{50} e RR_{95} . A partir da calibração feita com a linhagem suscetível Rockefeller, foram estabelecidas seis concentrações, com quatro réplicas cada, tanto para as populações avaliadas como para o controle. Os bioensaios seguiram o protocolo da Organização Mundial da Saúde. Para cada cidade avaliada, os ovos recebidos foram criados em laboratório, resultando em 2003 adultos, sendo 1708 *Ae. aegypti* e 295 *Ae. albopictus*. O número de paletas positivas variou de 40,7% a 93,75% com a porcentagem de emergência de adultos entre 19,43% a 57,39%. A relação entre sexos aproximou-se do esperado (1:1) em todas as localidades para ambas as espécies. Os resultados a partir da concentração diagnóstico indicam que as amostras de Loanda e Nova Londrina encontram-se susceptíveis, bem como *Ae. albopictus* de Maringá; já *Ae. aegypti* de Maringá, está resistente. As razões de resistência (RR_{50} e RR_{95}) foram: 1,24 e 1,58 para Loanda; 2,76 e 4,37 para Maringá e 2,07 e 4,0 para Nova Londrina. Desta maneira, as populações susceptíveis devem ser monitoradas a cada dois anos, enquanto que para as populações resistentes deve ser feito o manejo do inseticida a fim de obter uma reversão no status de resistência.

Palavras-chave: Resistência, vetores, dengue, organofosforado

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA.....	III
AGRADECIMENTOS.....	IV
LISTA DE FIGURAS.....	V
LISTA DE TABELAS.....	VI
RESUMO.....	VII
INTRODUÇÃO.....	09
2. OBJETIVOS.....	10
2.1 Objetivo Geral.....	10
2.2 Objetivo Específico.....	10
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
3.1 Caracterização dos municípios analisados.....	11
3.2 Estabelecimento e manutenção das colônias de insetos.....	13
3.3 Bioensaio para verificar a suscetibilidade de mosquitos ao Temefós.....	15
3.4 Análise Estatística.....	18
4. RESULTADOS.....	19
4.1 Bioecológicos.....	19
4.1.1 Loanda.....	19
4.1.2 Maringá.....	19
4.1.3 Nova Londrina.....	19
4.2 Dose Diagnóstica, Dose Resposta e Razão de Resistência.....	20
4.2.1 Loanda.....	20
4.2.2 Maringá.....	20
4.2.3 Nova Londrina.....	20
5. DISCUSSÃO.....	23
5.1 Bioecológicos.....	23
5.2 Dose Diagnóstica, Dose Resposta, Razão de Resistência.....	23
6. CONCLUSÕES.....	25
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26

INTRODUÇÃO

A dengue é uma doença viral transmitida por mosquitos do gênero *Aedes*, sendo incriminadas várias espécies do subgênero *Stegomyia*. O principal vetor desta arbovirose é o *Aedes aegypti*, sendo o *Aedes albopictus* um vetor de importância secundária na Ásia que ainda não foi incriminado de maneira consistente como vetor da doença nas Américas, embora já tenham sido encontrados mosquitos naturalmente infectados (Braga & Valle 2007).

Embora ocorram importantes avanços no desenvolvimento de medidas alternativas de controle, os inseticidas químicos se mantêm como parte vital dos programas de controle integrado, sendo utilizados já há muitos anos devido a sua eficácia, sustentabilidade e baixo custo (Prieto et al. 2002). Entre os principais métodos de controle utilizados no Brasil, recomendados pela Organização Mundial da Saúde, está o uso do organofosforado (OP) temefós granulado a 1%, um inseticida de baixa toxicidade para mamíferos (Funasa 2001).

Registros indicam que a utilização do temefós data de um histórico de mais de 40 anos de aplicações (Ministério da Saúde 1968). Essa longa exposição leva as populações a uma intensa pressão de seleção, podendo selecionar indivíduos capazes de tolerar doses que normalmente causariam mortalidade a indivíduos susceptíveis (Lima et al. 2003).

Segundo o balanço realizado pela Secretaria de Vigilância em Saúde, o Estado do Paraná registrou 43.691 casos de dengue de janeiro a julho de 2007, sendo considerado local de incidência alta. Conseqüentemente, a região Sul foi a que apresentou o maior aumento no número de casos, se comparado ao mesmo período de 2006, ultrapassando 870%. Já no Informe Epidemiológico de 2008, consta que o Paraná apresentou uma redução de 74,8% se comparado com o mesmo período de 2007, sendo ainda o único estado da região Sul que registrou transmissão autóctone no ano.

Os testes de monitoramento de resistência padronizados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) se fazem indispensáveis no programa do controle de vetores, para que as mudanças na suscetibilidade possam ser detectadas prontamente, visando otimizar as campanhas de saúde (Brown & Pal 1973, *apud* Prieto et al. 2002).

Devido ao relato da resistência de *Ae. aegypti* ao temefós em vários estados brasileiros e a importância do uso deste larvicida nos programas de controle do vetor, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a suscetibilidade ao organofosforado temefós em populações de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* provenientes de municípios do Estado do Paraná que apresentaram alta incidência de doença no ano de 2008.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Avaliar a suscetibilidade ao inseticida temefós de populações de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* pertencentes a três diferentes municípios do Estado do Paraná – Brasil.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar a suscetibilidade de larvas de terceiro ínstar final e quarto inicial de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* ao inseticida temefós, estimando as Concentrações Letais (CL) e razões de resistência (RR) 50% e 95%
- Verificar a coexistência de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* nos municípios analisados.
- Verificar a porcentagem de eclosão de razão sexual das espécies nos municípios analisados.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização dos municípios analisados

Maringá localiza-se no Noroeste paranaense, com 325.968 habitantes. A área territorial é de 466,43 Km². Possui altitude média de 555 metros, latitude 23° 25' 30" Sul, longitude 51° 56' 20" Oeste. O clima é subtropical com chuvas bem distribuídas, temperatura média máxima de 33,6 °C e mínima de 10,3 °C (IBGE 2009). (Figura 1)

Loanda localiza-se no Noroeste Paranaense, com 19.464 habitantes. A área territorial é de 719,86 Km². Possui altitude média de 560 metros, latitude 22° 55' 22" Sul, longitude 53° 08' 13" Oeste. O clima é subtropical úmido e a temperatura anual média é de 20°C (IBGE 2009). (Figura 1)

Nova Londrina localiza-se no Noroeste Paranaense, com 12.933 habitantes. A área territorial é de 270,371Km². Possui altitude média de 480 metros, latitude 22° 45' 57" Sul, longitude 52° 59' 06" Oeste. O clima é subtropical úmido e a temperatura anual média é de 19°C (IBGE 2009). (Figura 1)

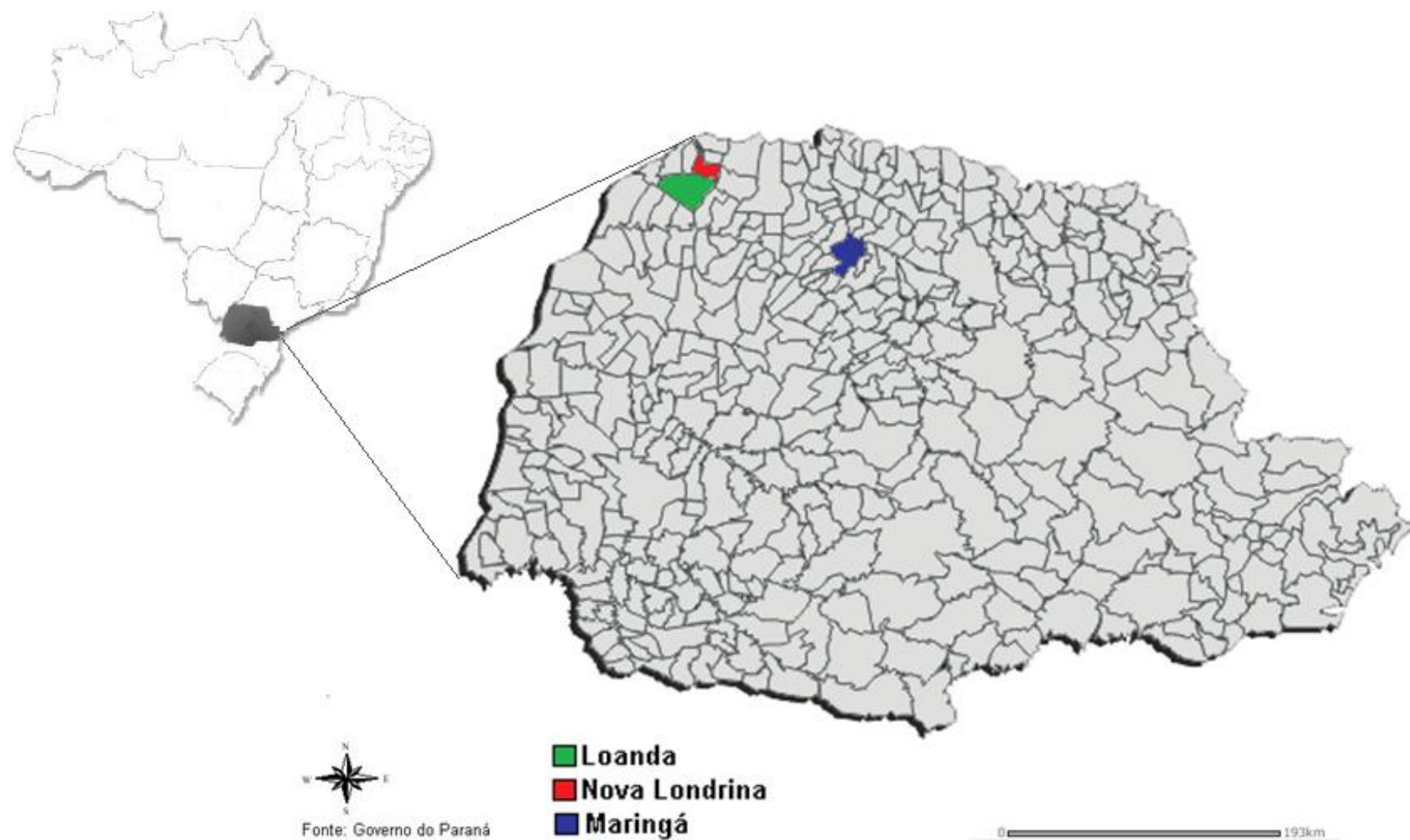


Figura 1- Mapa do Brasil, com destaque para o Estado do Paraná e os municípios analisado para ocorrência de população de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, resistentes ao temefós.

3.2. Estabelecimento e manutenção das colônias de insetos

As coletas de ovos foram realizadas pelos respectivos Núcleos de Entomologia da Secretaria de Estado da Saúde do Paraná (SESA), Loanda e Nova Londrina tiveram as coletas realizadas em novembro de 2008, enquanto Maringá teve a coleta realizada em dezembro do mesmo ano. As armadilhas utilizadas para coleta foram as ovitrampas, recipientes escuros contendo paletas de eucatêx de 2 cm de largura por 12 cm de comprimento, presas em suporte plástico e submersas em 500ml de solução de feno a 10%, ficaram em campo durante cinco dias. A distribuição das armadilhas foi de forma aleatória nos peridomicílios das residências em vários pontos dos municípios, seguindo o padrão da Fundação Nacional de Saúde (Funasa 2001).

Após a coleta, as paletas foram encaminhadas ao Laboratório de Entomologia Médica e Veterinária da Universidade Federal do Paraná (Departamento de Zoologia), onde ficaram armazenadas sob condições controladas de temperatura ($26\pm 2^{\circ}\text{C}$), umidade relativa do ar ($80\pm 10\%$) e fotoperíodo (12h:12h). As paletas tiveram seus ovos quantificados sob microscópio estereoscópico e posteriormente, para induzir a eclosão, foram colocadas individualmente em copos plásticos com capacidade para 770 ml de água desclorada contendo aproximadamente 0,36 g/copo de ração de gatos Purina® Cat Chow ®. (Figura 2). Após a eclosão, as paletas foram retiradas e, as larvas transferidas para um novo recipiente plástico onde receberam uma quantidade aproximada de 1g de ração por dia, até atingirem o estágio de pupa. Nesta fase, os indivíduos foram transferidos para um novo recipiente e colocados em gaiolas para identificação dos adultos quanto ao sexo e espécie (Figura 3). De três a cinco dias após a emergência dos adultos, era fornecido o repasto sanguíneo para as fêmeas, a fim de obter os ovos da geração F1 para a realização dos bioensaios. O mesmo processo foi realizado na criação e manutenção de uma colônia Rockefeller (cepa suscetível), cujos ovos já estão disponíveis no Laboratório de Entomologia Médica e Veterinária da UFPR.

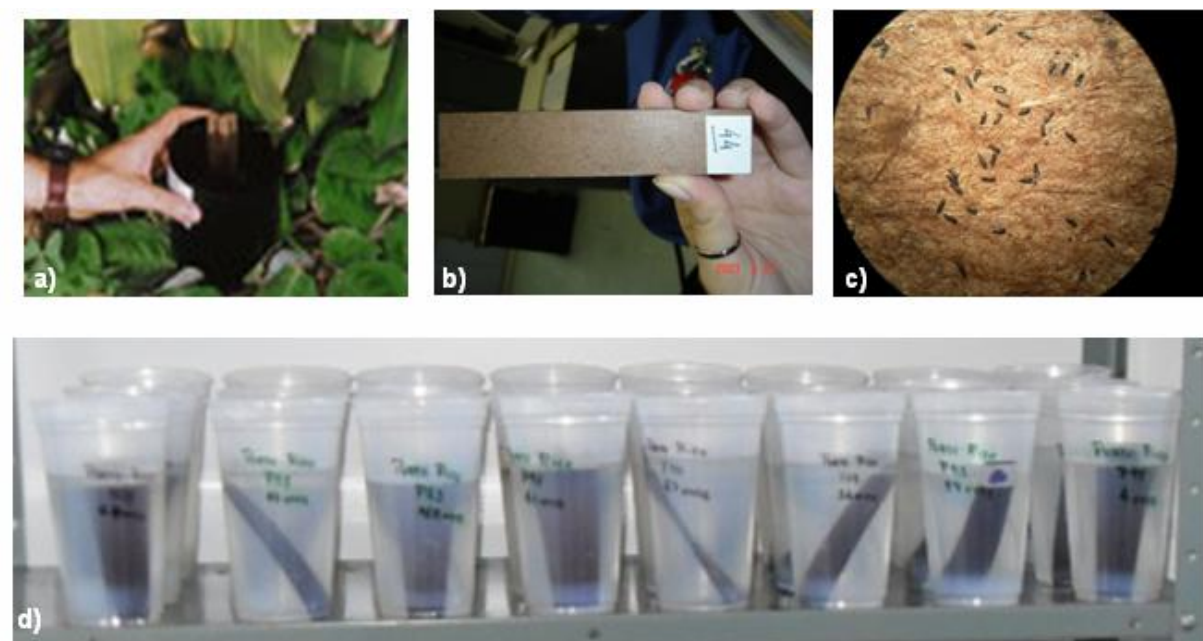


Figura 2 – Paletas e início do processo de criação: a) ovitrampa, b) paleta, c) detalhe da paleta com ovos, d) recipientes com paletas, água desclorada e ração para estimular a eclosão dos ovos.

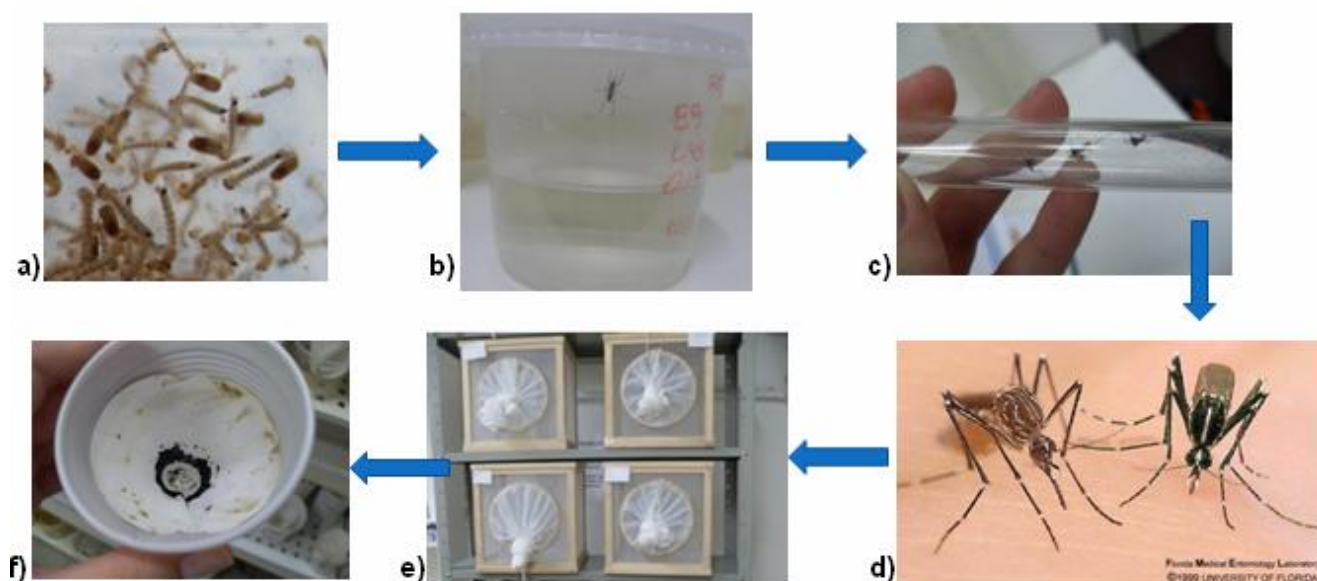


Figura 3 – Processo de criação para obtenção de larvas para realização dos bioensaios: a) larvas e pupas, b) recipiente com pupas e adultos, c) identificação de adultos, d) diferenças morfológicas entre *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, e) gaiolas para criação de adultos, f) oviposição

3.3 Bioensaio para verificar a suscetibilidade de mosquitos ao Temefós

O inseticida utilizado foi o Temefós Fersol 94,35%, e a calibração do produto químico foi realizada com a linhagem suscetível *Ae. aegypti* Rockefeller. Os bioensaios seguiram o modelo recomendado pela Organização Mundial da Saúde (1981) e Programa Nacional de Combate à Dengue (PNCD). Para detectar qualitativamente a presença de indivíduos resistentes em relação à colônia Rockefeller, foi utilizada uma concentração diagnóstica (CD) de 0,022ppm correspondendo a duas vezes a CL_{99} (0,011 ppm) da colônia suscetível (WHO 1981, 1992; Lima *et al.* 2003). Os bioensaios foram repetidos 4 vezes, em diferentes dias. Para cada população, foram utilizadas 4 réplicas contendo a CD, e 1 réplica contendo álcool para o controle. Utilizamos, ainda, 4 réplicas com a CD para a cepa rockefeller, como um controle da qualidade do inseticida (Figura 4).

Quando detectada resistência (mortalidade < 80%) ou alteração da suscetibilidade (mortalidade entre 80% e 98%) a partir do ensaio com a Dose Diagnóstica, foi feita a análise quantitativa. Para tal, se realizou o bioensaio Dose Resposta onde foram utilizadas seis concentrações do inseticida. Utilizaram-se um controle com álcool absoluto e mais quatro réplicas por concentração de inseticida. Cada réplica recebeu 20 larvas de terceiro instar final e quarto inicial, resultando em 100 larvas por concentração (Figura 5). Os testes foram repetidos quatro vezes em diferentes dias e o desenho experimental seguiu as orientações da OMS. Todos os testes foram realizados em paralelo com a colônia Rockefeller.

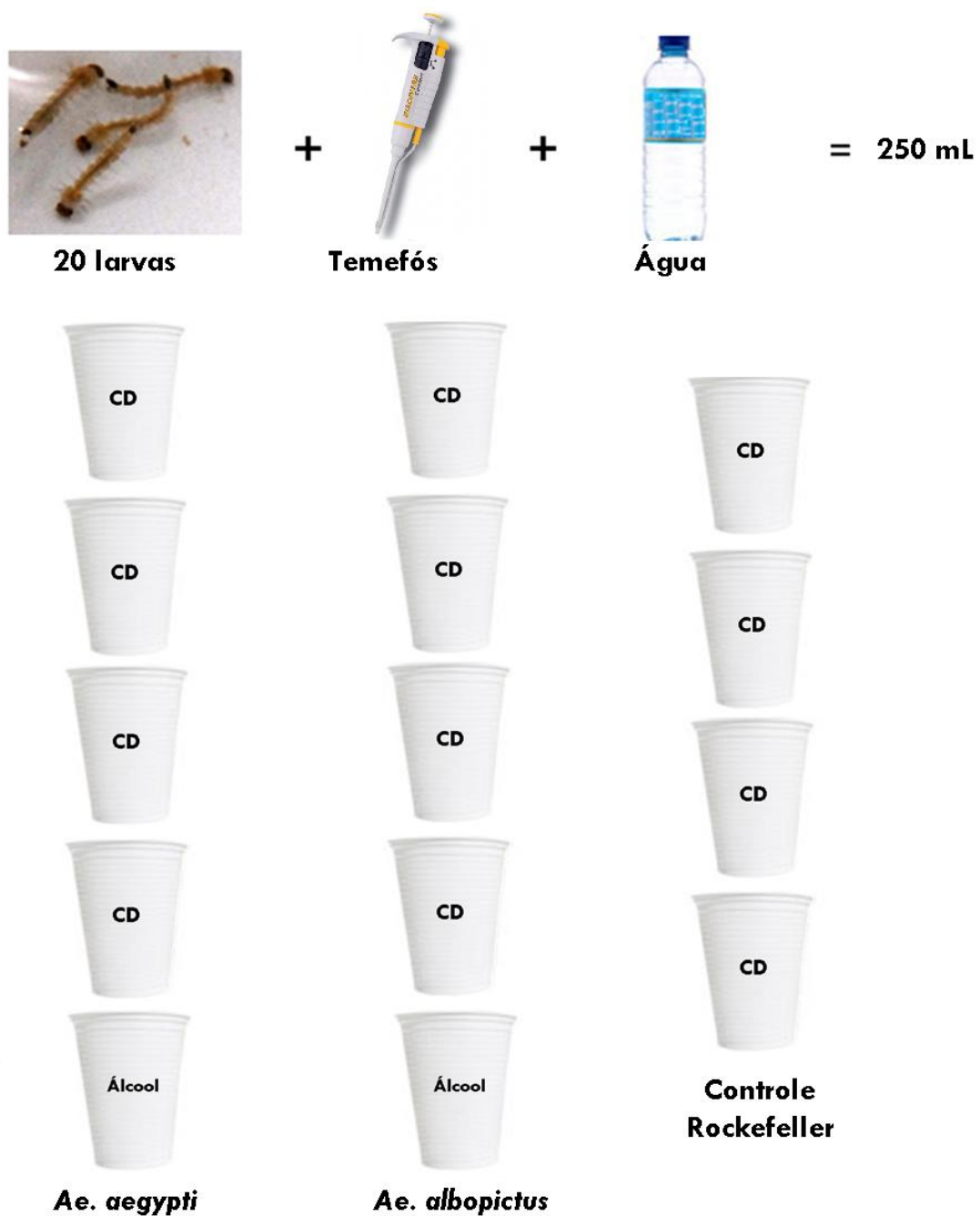


Figura 4 – Modelo esquemático do Ensaio Dose Diagnóstica

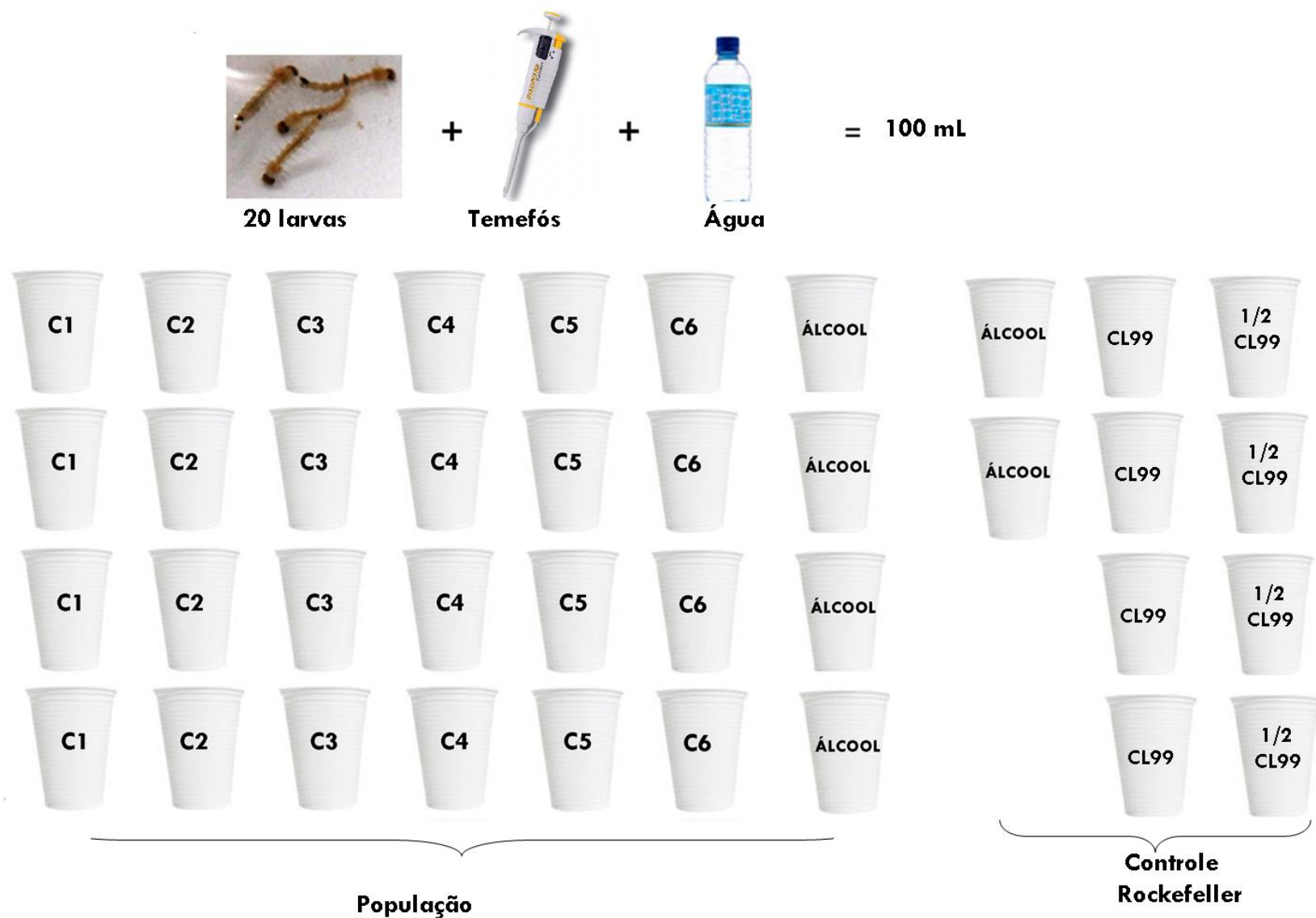





Figura 5 – Modelo esquemático do ensaio Dose Resposta

3.4 Análise Estatística

Foi seguido o critério da Organização Mundial da Saúde para detectar alterações da suscetibilidade das populações analisadas (Tabela 1).

Tabela I – Critérios para análise dos resultados com o Bioensaio Dose Diagnóstica

% Mortalidade	Status	Procedimento
 >98%	Susceptível	---
 >80% e <98%	Alteração na suscetibilidade	Bioensaio Dose Resposta
 <80%	Resistente	Bioensaio Dose Resposta

A razão de resistência (RR) é razão entre as concentrações letais obtidas para as populações de campo pela concentração letal da colônia suscetível. Essa razão é utilizada como indicador quantitativo e foram utilizadas as concentrações letais 50 e 95% de mortalidade (CL₅₀ e CL₉₅). Razões de resistência menores que 5 indicam baixa resistência; entre 5 e 10 indicam média resistência e acima de 10, alta resistência (Mazzari & Georghiou 1995). Para determinar as concentrações letais CL₅₀ e CL₉₅, fazer o teste χ^2 e calcular os intervalos de confiança, foi utilizado o programa Probit GW-basis (Finney 1971).

Nos municípios que apresentaram coexistência de espécies, a razão entre elas será o resultado da divisão de *Aedes aegypti* por *Aedes albopictus*.

4. RESULTADOS

4.1 Bioecológicos

4.1.1 Loanda

A coleta no município de Loanda foi realizada pelo Núcleo Regional de Porto Rico. Foram instaladas 32 ovitrampas, das quais 30 eram positivas para ovos, representando aproximadamente 93,75% do total exposto (Tabela II).

As paletas recebidas totalizaram 1186 ovos, dos quais 263 eclodiram, indicando 22,18% de taxa de eclosão. Todos os indivíduos (100% da amostra) eram da espécie *Aedes aegypti*, apresentando razão sexual de 0,49 (Tabela III).

4.1.2 Maringá

A coleta no município de Maringá foi realizada pelo Núcleo Regional de Maringá. Foram instaladas 140 ovitrampas, das quais 57 eram positivas para ovos, representando aproximadamente 40,7% do total exposto (Tabela II).

As paletas recebidas totalizaram 2694 ovos, os quais foram submetidos à eclosão sob condições de laboratório, dando origem a 1542 adultos, sendo 1247 indivíduos (80,9% da amostra) da espécie *Aedes aegypti* e 295 indivíduos (19,1% da amostra) da espécie *Aedes albopictus*. A porcentagem de eclosão foi de 57,39%, e a razão sexual encontrada foi de 0,46 (Tabela III).

Foi detectada presença simultânea de ambas as espécies em apenas 16 armadilhas, representando 28% das paletas positivas, desta maneira, a razão encontrada entre as espécies foi de 4,22 espécimes de *Aedes aegypti* para cada *Aedes albopictus*.

4.1.3. Nova Londrina

A coleta no município de Nova Londrina foi realizada pelo Núcleo Regional de Porto Rico. Foram instaladas 30 ovitrampas, das quais 28 eram positivas para ovos, representando aproximadamente 93,3% do total exposto (Tabela II).

As paletas recebidas totalizaram 1019 ovos, dos quais 198 eclodiram, indicando 19,43% de taxa de eclosão. Todos os indivíduos (100% da amostra) eram da espécie *Aedes aegypti*, apresentando razão sexual de 0,43 (Tabela III).

4.2. Dose Diagnóstica, Dose Resposta e Razão de Resistência

A Concentração Diagnóstica, estabelecida a partir da calibração da cepa suscetível Rockefeller com o inseticida Temefós Fersol 94,35%, foi de 0,022 ppm (mg/L). As concentrações múltiplas, utilizadas no bioensaio Dose Resposta, foram: 0,00189 ppm; 0,0078 ppm; 0,0156 ppm; 0,022 ppm; 0,0273 ppm e 0,03708 ppm.

As populações e espécies avaliadas neste trabalho responderam de formas distintas quanto à classificação de status de suscetibilidade ao organofosforado.

4.2.1 Loanda

Através do estabelecimento da colônia, foram obtidos ovos da geração F1 para realização dos bioensaios. O resultado (99,7% de mortalidade larval) indica que a amostra recebida está suscetível ao inseticida utilizado (Tabela IV). As CL_{50} e CL_{95} encontradas foram de, respectivamente, 0,00681 ppm e 0,01475 ppm. As RR_{50} e RR_{95} foram de 1,24 e 1,58. (Tabela V). O Slope encontrado foi de 4,20.

4.2.2 Maringá

Através do estabelecimento das colônias, foram obtidos ovos da geração F1 para realização dos bioensaios. Os resultados para *Aedes aegypti* (72,5% de mortalidade larval) indica que a amostra está resistente. Já *Aedes albopictus* (100% de mortalidade larval), encontra-se suscetível (Tabela IV).

A partir de bioensaios com Concentrações Múltiplas, realizados apenas para *Aedes aegypti*, foram encontradas CL_{50} e CL_{95} de, respectivamente, 0,01517 ppm e 0,04052 ppm o que representa RR_{50} e RR_{95} de 2,759 e 4,37 (Tabela V). O slope encontrado foi de 3,86

4.2.3 Nova Londrina

Através do estabelecimento da colônia, foram obtidos ovos da geração F1 para realização dos bioensaios. Os resultados (80,31% de mortalidade larval) indicam que a amostra recebida apresenta alteração da suscetibilidade (Tabela IV). As CL_{50} e CL_{95} encontradas foram de, respectivamente, 0,01137 ppm e 0,03716 ppm. Os valores das RR_{50} e RR_{95} foram de 2,07 e 4,0, indicando que a amostra está resistente (Tabela V). O slope encontrado foi de 3,20.

Tabela II. Número total de paletas e percentagem de paletas positivas nos municípios de Loanda, Maringá e Nova Londrina.

Localidade	Nº total de paletas	Paletas + (%)*
Loanda	32	30 (93,75)
Maringá	140	57 (40,7)
Nova Londrina	30	28 (93,3)

*Paletas positivas: número de paletas positivas x 100 / número total de paletas.

Tabela III. Atividade de oviposição, eclosão, sexagem e razão sexual de adultos de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* nos municípios de Loanda, Maringá e Nova Londrina.

Localidades	Ovos	Adultos	% eclosão	<i>Ae.</i> <i>aegypti</i>	♂	♀	<i>Ae.</i> <i>albopictus</i>	♂	♀	Razão sexual
Loanda	1186	263	22,18	263	134	129	0	0	0	0,49
Maringá	2694	1542	57,39	1247	683	546	295	152	143	0,46
Nova Londrina	1019	198	19,43	198	113	85	0	0	0	0,43

Tabela IV. Bioensaios com a concentração diagnóstico 0,022 mg/L (calibrada com a cepa Rockefeller) em larvas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* provenientes dos municípios de Loanda, Maringá e Nova Londrina.

Município	% Mortalidade	
	Espécie	0,022 mg/L *
Loanda	<i>Ae. aegypti</i>	99,69
	<i>Ae. aegypti</i>	72,50
Maringá	<i>Ae. albopictus</i>	100,0
	<i>Ae. aegypti</i>	80,31
Nova Londrina	<i>Ae. aegypti</i>	80,31

Tabela V. Municípios avaliados, espécies e geração utilizada, concentrações letais (mg/L) e respectivos intervalo de confiança, qui-quadrado e razão de resistência (RR₅₀ e RR₉₅) em populações de *Ae. aegypti*.

Município	Espécie	Slope	CL ₅₀ (IC)	CL ₉₅ (IC)	X ²	RR ₅₀	RR ₉₅
Rockefeller	<i>Ae. aegypti</i> (Fx)	-	0,00549 (± 0,00015)	0,00927 (± 0,00052)	1,39	1	1
Loanda	<i>Ae. aegypti</i> (F1)	4,20	0,00681 (± 0,00034)	0,01475 (± 0,001)	1,00	1,24	1,58
Maringá	<i>Ae. aegypti</i> (F1)	3,86	0,01517 (± 0,00073)	0,04052 (± 0,00492)	2,57	2,76	4,37
Nova Londrina	<i>Ae. aegypti</i> (F 1)	3,20	0,01137 (± 0,0007)	0,03716 (± 0,0037)	5,18	2,07	4,00

5. DISCUSSÃO

5.1. Dados Bioecológicos

A positividade das paletas oscilou entre 40,7% e 93,75%, a porcentagem de eclosão de larvas ultrapassou 25% apenas na amostra do município de Maringá (57,39%). Os municípios de Loanda e Nova Londrina, as que apresentaram menor índice de casos de dengue no período, foram que tiveram maior positividade de paletas, indicando distribuição homogênea do culicídeo, porém, menor eclosão, sugerindo menor viabilidade dos ovos coletados

Fantinatti *et al.* (2007) obtiveram eclosão abaixo de 49% em todas as amostras, sendo que o tempo de armazenamento dos ovos desde a coleta foi heterogêneo, não ultrapassando noventa dias. Prophiro (2008) obteve eclosão acima de 60% na maioria dos municípios analisados, relacionando essa maior viabilidade ao menor tempo de armazenamento (máximo cinquenta dias). No presente trabalho, porém, o tempo de armazenamento não ultrapassou trinta dias, e as taxas de eclosão foram similares à Fantinatti *et AL* (2007). Segundo Juliano *et al.* (2002), variáveis como temperatura, umidade, condições de transporte e tempo de armazenamento afetam a integridade e a taxa de eclosão de ovos de *Ae. aegypti*.

A partir do slope podemos inferir que a população de Loanda é a mais homogênea, seguida por Maringá e Nova Londrina (Tabela V).

5.2. Dose Diagnóstica, Dose Resposta e Razão de Resistência

Segundo o critério de Davidson & Zahar (1973), as taxas de mortalidade das amostras de *Aedes aegypti* tratadas com a dose diagnóstica do inseticida temefós demonstraram que a população de Maringá está resistente, a população de Nova Londrina encontra-se em processo de estabelecimento de resistência, e apenas a população de Loanda é suscetível ao larvicida. Sugere-se que as populações destes municípios estejam sob pressão seletiva distinta, justificando as variações no status de suscetibilidade, apesar da proximidade de dois dos três municípios.

Embora *Ae. albopictus* não seja a espécie alvo nos programas de controle, visto que ainda não há registros que este seja vetor do vírus, ocorrem

ininterruptas e recentes introduções de *Ae. albopictus* no território brasileiro (Lourenço de Oliveira *et al.* 2003), e estas introduções pode contribuir para a maior diversidade quanto à resposta de *Ae. albopictus* no status de suscetibilidade ao organofosforado testado. Essa teoria é corroborada com o trabalho de Prophiro (2008), que encontrou populações com alteração na suscetibilidade, enquanto a população testada neste trabalho, proveniente do município de Maringá, apresentou-se totalmente suscetível ao inseticida.

Segundo o critério de Mazzari & Georgiou (1995), as populações de *Ae. aegypti* que foram submetidas ao ensaio Dose Resposta, apresentaram valores de RR_{50} e RR_{95} baixos (<5). O mesmo foi verificado por Prophiro (2008), Duque *et al.* (2004) e Duque (2008), que obtiveram baixos níveis de RR para populações de Foz do Iguaçu, Santa Helena, Ubatuba, Curitiba, Maringá, Paranavaí, Ibitinga, Cambé e Jacareizinho (PR).

O critério original estabelece que a substituição de inseticida deve ser feita quando a mortalidade com a Dose Diagnóstica é menor que 80% e a $RR > 10$, porém, de acordo com novos dados do Ministério da Saúde, mortalidade com a dose diagnóstica menor que 70% e RR maior que 3,0 são o novo critério de substituição seguido pela Rede Nacional de Monitoramento de Resistência de *Aedes aegypti* (MoReNAa). Isto se deve ao fato que, ao ultrapassar uma RR de 3,0, é muito difícil que ocorra a reversão do status de resistência. Desta maneira, as populações de Maringá e Nova Londrina, testadas neste trabalho, já alcançaram o status necessário para ser feita a substituição do larvicida em função da razão de resistência.

A suscetibilidade observada nas amostras de Loanda e Nova Londrina sugerem que, em caso de correta aplicação do organofosforado, estas populações apresentem alta mortalidade e suspendam o ciclo de transmissão viral. Isso é corroborado com o Boletim Informativo da Dengue de 2008, que mostra apenas um caso confirmado da doença em Loanda.

Mesmo produtos considerados eficazes em determinadas localidades devem estar em constante monitoramento para evitar o comprometimento das ações de controle de vetores, pois a suscetibilidade do culicídeo não é o único fator determinante; o clima, procedimentos utilizados na preparação e aplicação do inseticida também influenciam no controle. As respostas de diferentes populações variam conforme o histórico de utilização dos inseticidas.

Um monitoramento contínuo, juntamente com preparo e aplicação correta dos químicos, são considerados de extrema importância para o controle de arboviroses, pois auxilia na criação de estratégias alternativas e funcionais para um controle mais efetivo dos vetores.

6. CONCLUSÕES

- A coexistência de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* foi observada em apenas um dos três municípios analisados, indicando que nesta cidade as duas espécies estariam sob o mesmo processo de pressão seletiva;
- Amostras de *Ae. aegypti* de Maringá apresentaram a menor suscetibilidade, indicando resistência ao organofosforado temefós;
- As populações de *Ae. aegypti* dos municípios de Nova Londrina e Loanda foram consideradas com alteração na suscetibilidade e suscetível ao organofosforado temefós, respectivamente;
- A população de *Ae. albopictus* proveniente do Município de Maringá é suscetível ao organofosforado temefós.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, E.A.P. 2005. **Fecundidade, fertilidade e quiescência dos ovos de *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 (Diptera: Culicidae) em resposta a variações de temperatura e umidade.** Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 73p.
- Boletim informativo da dengue número 11/2008. Disponível em: <http://www.saude.pr.gov.br/arquivos/File/boletimdengue/BoletimDengue11_2008.pdf>. Acessado em 11 de setembro de 2009.
- Braga, I. A., Valle, D. 2007. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, 16 (4): 279-293
- Davidson, G. & D.A. Zahar. 1973. The practical implications of resistance of malaria vectors to insecticides. **Bulletin of the World Health Organization** 49: 475-483.
- Duque, J.E.L. 2008. **Descrição e análise de fatores epidemiológicos, vetoriais e do controle da dengue no Estado do Paraná, Brasil.** Tese de doutorado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 150p.
- Duque, J.E.L., F.M. Martins, F.A. Dos Anjos, E.F. Kuwabara & M.A. Navarro-Silva. 2004. Suscetibilidade de *Aedes aegypti* aos inseticidas Temefós e Cipermetrina, Brasil. **Revista de Saúde Pública** 38: 842-843.
- Fantinatti, E.C.S., J.E.L. Duque, A.M. Silva & M.A. Navarro-Silva. 2007. Abundance and aggregation of egg of *Aedes aegypti* L. and *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) in the north and northwest of the State of Paraná, Brazil. **Neotropical Entomology** 36: 960-965.
- Finney, D. J. 1971. **Probit Analysis**. Cambridge University Press, 3rd Edition.

FUNASA (Fundação Nacional de Saúde). 2001. Programa Nacional de Controle da Dengue. Brasília. Ministério da Saúde.

IBGE 2009. IBGE Cidades. Disponível em <<http://www.ibge.com.br/cidadesat/topwindow.htm?1>> Acessado em 30 de junho de 2009.

Juliano, S.A., G.F. O'Meara, J.R. Morrill & M.M. Cutwa. 2002. Desiccation and thermal tolerance of eggs and the coexistence of competing mosquitoes. **Oecologia 130**: 458-469.

Lima, J. B. P.; Pereira da Cunha, M.; Silva-Jr, R. C. S.; Galardo, A. K. R.; Soares, S. S.; Braga, I. A.; Ramos, R. P. & Valle, D. 2003. Resistance of *Aedes aegypti* to organophosphates in several municipalities in state of Rio de Janeiro and Espírito Santo, Brasil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 62**: 329-333.

Lourenço-de-Oliveira, R., M. Vazeille, A.M.B. Filippis & A.B. Failloux. 2003. Large genetic differentiation and low variation in vector competence for dengue and yellow fever viruses of *Aedes albopictus* from Brazil, the United States, and the Cayman Islands. **American Journal of the Tropical Medicine and Hygiene 69**: 105-114.

Mazzari, M.B & G.P. Georgio. 1995. Characterization of resistance to organophosphate, carbamate, and pyrethroid insecticides in field populations of *Aedes aegypti* from Venezuela. **Journal of the American Mosquito Control Association 11**: 315-322.

Ministério da Saúde – Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS). 2007. Balanço Dengue Janeiro a Julho de 2007. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/dengue_0210.pdf. Acessado em 06 de maio de 2008.

Ministério da Saúde – Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS). 2008. Informe Epidemiológico da Dengue, Janeiro a Abril de 2008. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/visualizar_texto.cfm?idtxt=28469. Acessado em 12 de maio de 2008.

Ministério da Saúde – Vigilância Epidemiológica - Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD). Disponível em: http://portal.saude.gov.br/saude/visualizar_texto.cfm?idtxt=21389. Acessado em 05 de maio de 2008.

Ministério da Saúde. 1968. Endemias Rurais. Métodos de trabalho adotados pelo DNERu, Departamento Nacional de Endemias Rurais.

Prieto, A. V.; M. F. Suárez & R. Gonzalez. 2002. Susceptibilidad de dos poblaciones de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) de Cali (Valle, Colombia) a Temefos (Abate®) y Triflumuron (Starycide®). **Revista Colombiana de Entomología** 28 (2): 175-178.

Prophiro, J. S. 2008. Suceptibilidade de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e de *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae) a organofosforado e atividade inseticida de produtos de origem botânica. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, 122p.

World Health Organization, 1981. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. Geneva: World Health Organization, WHO/VBC/ 81.807.

World Health Organization. 1992. Vector resistance to pesticides. Fifteenth Report of the WHO Expert Committee on Vector Biology and Control. **WHO Technical Report Series** 818:1-62.